

マクロファージの分化転換と細胞融合

著者	高橋, 潔
雑誌名	マクロファージの起源、発生と分化 : メチニコフの食細胞、アショッフ・清野の細網内皮系とファン・ファースの単核性食細胞系の諸学説を踏まえて
ページ	400-408
発行年	2008
URL	http://hdl.handle.net/2298/10444

源に関して線維芽細胞の一種である細網細胞由来で、その分化過程は個体発生学的にも実証され、成熟個体での二次リンパ組織での FDC の分化も局所の間葉性細胞由来が支持されている。この学説に対して FDC の骨髄由来が提示されているが、その骨髄内での FDC 前駆細胞は未確定である。胚中心内にも T 細胞を活性化する樹状細胞の存在が指摘され、この種の樹状細胞は T 細胞関連樹状細胞に包括される。

12 マクロファージの分化転換と細胞融合

1) 分化転換 (transdifferentiation)

マクロファージは造血幹細胞に由来し、単球系細胞の分化段階を経由する分化経路と単球系細胞の分化段階を経由せずに造血前駆細胞から分化する径路があり、さらにリンパ系前駆細胞から骨髄系細胞への転換 (conversion) を起し、とりわけ B 細胞系からマクロファージへと分化転換することが明らかにされている。この事実はマクロファージがすべて単球系細胞の分化段階を経て骨髄内で成熟した単球に由来すると主張する van Furth ら (1972) の MPS 学説とは異なり、それ以外の分化過程でもマクロファージの発生することが実証されている。マクロファージの類縁細胞である破骨細胞やミクログリアも無刺激定常状態で発生し、単球系細胞以前の分化段階にある造血前駆細胞に由来する。これに対して、単球由来のマクロファージは炎症性刺激状態で分化し、炎症性マクロファージと呼ばれている。マクロファージの近縁細胞である樹状細胞の分化も同様で、無刺激定常状態でも定常型樹状細胞が発達し、この細胞群は骨髄系のみならずリンパ系前駆細胞から派生する。これに対して、単球由来の樹状細胞は炎症性刺激状態で発生し、炎症性樹状細胞とも呼ばれ、造血幹細胞から派生する形質細胞様樹状細胞も専ら病的状態で発生する。このように、無刺激定常状態で発達する定常型樹状細胞は組織マクロファージと同様に、単球に由来するものではなく、むしろ造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の分化段階から派生する。

こう言ったマクロファージの発生、分化や成熟に対して、マクロファージの分化転換が知られている¹⁹¹⁷⁾。従来未分化な細胞が成熟した細胞に変化し、細胞特有の機能を獲得する分化 (differentiation) に対して、分化転換 (transdifferentiation) とは分化した細胞の相互間に起る形質変換を意味し¹⁹¹⁸⁾、ある種の分化した細胞が別の細胞に転換する現象と規定される¹⁹¹⁹⁾。従来病理学の分野で用いられる化生 (metaplasia) や異形成 (dysplasia) との異同が問題になり、Slack ら (2001、2007) によると、化生はある組織が別の組織に転換する現象で、それぞれの幹細胞のレベルで転換し、別の細胞に分化し、別の組織に成ることを意味する。他方異形成とは幹細胞のレベルでの転換が正常には存在しない異常な表現型を示す別の組織に転換する場合に用いられる^{1917, 1919)}。しかし、分化した組織でも ES 細胞に類似の多潜能を有する状態に再プログラムされることが知られ、胚性幹細胞様形質転換 (ES transformation) と呼ばれている¹⁹¹⁹⁾。以上の定義に従うと、分化転換は分化した組織や細胞の間に起る現象で、その前駆細胞も分化した細胞と見做され、Eberhard & Tosh (2008)

によると、分化転換の基準として転換前後の細胞の特徴が形態学的ならびに分子レベルで明確に規定され、それら細胞の分化系列が確立されている¹⁹²⁰⁾。しかしながら、生体内で起る分化転換は多くの場合、細胞分裂と分化喪失とを起し、化生現象に類似し、細胞分裂を起さずに分化した組織細胞が別の組織細胞への直接的分化転換の実例は稀である¹⁹²¹⁾。分化転換は成熟個体の組織損傷、修復、再生、移植、全身放射線照射、心臓毒の筋内注射、過激な運動、挫創、冠動脈結紮などの病的現象において起り、化生や決定転換(transdetermination)などの機序も包括され、種々の転写因子の発現によってある組織細胞から別の組織細胞への着実な再プログラム化の過程である¹⁹¹⁷⁾。成熟個体でも各臓器、組織には幹細胞が存在し、成熟体性幹細胞(adult somatic stem cells)と呼ばれ、骨髓内に在住する造血幹細胞は一般に最も良く認められている成熟幹細胞である¹⁹²²⁾。骨髓除去マウスに単一造血幹細胞を移植すると、宿主マウスでは移植された造血幹細胞は骨髓内に移住し、多潜能と自己増殖によって骨髓系ならびにリンパ系列の造血細胞に分化する¹⁹²²⁾。全身放射線照射で全身の組織に傷害を起し、造血幹細胞を注入すると、傷害された組織に造血幹細胞が移住し、組織コミット幹細胞になり、マクロファージを含む造血細胞へと分化、成熟する。

すでに「マクロファージの起源」の「マクロファージの造血幹細胞由来」の項(p. 78)で述べた如く、骨髓からは造血幹細胞のみならず間葉性幹細胞が産生され、末梢血に放出され、これらの幹細胞は骨髓由来幹細胞(bone marrow-derived stem cells)と呼ばれ、間葉性幹細胞は骨髓ストローマ細胞に包括されている^{1922, 1923)}。Hume ら(2002、2006)や Camargo ら(2004)の概説によると、骨髓から末梢血へと放出され、骨髓由来の間葉性幹細胞は末梢組織で神経細胞、肝細胞、腎上皮細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞、筋線維芽細胞など種々の細胞に変態し、この過程は広い意味で分化転換(transdifferentiation)と呼ばれる^{565, 566, 1922)}。このように、末梢血中では循環している骨髓由来の間葉性幹細胞プールが存在するが、この細胞群は骨髓内での造血幹細胞ないし造血前駆細胞から由来する。これに対して、単球や炎症性マクロファージが血管内皮細胞、筋線維芽細胞や平滑筋細胞などの血管壁細胞への転換が報告され^{1917, 1924~1932)}、これらの知見から Hume ら(2002、2006)は単球が実は多潜能を有し、種々の間葉細胞に分化する可能性は除外することが出来ないと主張し、遺伝子発現の面からもこの思考を支持した^{565, 566)}。この思考は「網内系の血球発生一元論と未分化間葉細胞起源(血球発生極一元論)」や「マクロファージの線維芽細胞への転化」の項(p. 48, p. 74)で述べられた如く、20 世紀前半から後半にかけて論じられ、近年間葉性幹細胞の概念を産むに至った^{398, 404~412)}。Hume ら(2002、2005)は、さらに、線虫 *Caenorhabditis elegans* の CED-6、CED-7 はヒトを含む哺乳類でも相同体を有し、アポトーシスに堕ちた細胞を認識し、循環中の食細胞に発現すると、アポトーシス細胞を貪食する知見を引用し^{1933, 1934)}、さらに、完全にマクロファージの欠損した PU.1 欠損マウスでも線維芽細胞が貪食能を発揮し、間葉性食細胞ないし貪食性線維芽細胞の発生を指摘し、遺伝子レベルでも間葉細胞や線維芽細胞のマクロファージへの分化転換の発現を主張した^{565,}

566)。しかしながら、単球は造血細胞の単球系細胞の終末段階の分化、成熟した細胞であって、多潜能を有する間葉性幹細胞とは同一視することは出来ない。

骨髄由来幹細胞は造血幹細胞と非造血性の間葉性幹細胞とに区別され、骨髄内での多潜能を保有する造血幹細胞の維持は間葉性幹細胞との相互作用が重要で、造血(骨髄)幹細胞ニッチ(bone marrow stem cell niche)によって支持され、骨髄系細胞、T、B リンパ球系、NK 細胞、樹状細胞と相互作用を示し、造血幹細胞は血液細胞へと分化する¹⁹³⁵⁾。Y 染色体などドナーの遺伝マーカー、lacZ、GFP などドナー由来のリポーター遺伝子で標識したマウスの全骨髄細胞ないし骨髄幹細胞の移植実験で、全身放射線照射、冠状動脈結紮、心臓毒注射などの組織障害を惹起すると、骨髄幹細胞は骨髄から末梢血へと放出され、傷害末梢組織に移住し、種々の細胞に分化変換し、傷害細胞の供給源と見做されている¹⁹²²⁾。ラットへの骨髄幹細胞の移植による脊髄創傷治癒過程を検討した結果では、骨髄細胞や間葉性幹細胞など異なった骨髄細胞群による処理は創傷治癒に効果を示したが、間葉性幹細胞による効果が顕著である¹⁹³⁶⁾。しかし、骨髄幹細胞のみならず骨髄単球系前駆細胞、単球、マクロファージもまた同様に種々の細胞に分化転換することが報告され^{1917, 1924~1931, 1937~1939)}、これらの骨髄幹細胞、骨髄系前駆細胞やマクロファージが間葉系細胞の垣根を越えて種々の上皮細胞へと分化転換を起すか否かの成熟幹細胞の可塑性に関しては細胞汚染(contamination)の問題¹⁹²²⁾や否定的な見解や疑問が提示されている^{1940~1943)}。

最近高橋、山中(2006)、高橋ら(2007)はヒトやマウスの成熟皮膚から単離、培養した線維芽細胞に Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc の 4 転写因子をレトロウイルスで形質導入し、誘導多能性幹細胞(induced pluripotent stem cells: iPS cells)が作製することに成功した^{1944, 1945)}。その後 c-Myc がなくとも iPS 細胞が作製され¹⁹⁴⁶⁾、俗に人工万能細胞とも呼ばれ、多くの点で ES 細胞に類似し、培養上 iPS 細胞は造血細胞を含めて種々の体細胞へと分化する¹⁹⁴⁶⁾。iPS 細胞を SCID マウスや RAG-2^{-/-}重複欠損マウスに移植すると、奇形腫が発生し、種々の細胞への分化した混合腫瘍の発生が実証され、iPS 細胞から種々の細胞へと分化する^{1946, 1947)}。さらに、成熟マウスの肝細胞や胃上皮細胞からも iPS 細胞が作製されている¹⁹⁴⁸⁾。このように、iPS 細胞や ES 細胞の研究から今日では多能性幹細胞が細胞種の垣根を越えて種々の細胞に分化することには疑問の余地がない。

実験的には、全身放射線照射、心臓毒注射、冠状動脈結紮、遺伝子欠損マウスなどに全骨髄あるいは骨髄幹細胞移植し、造血組織以外の組織でのドナー造血細胞の非造血性宿主細胞への分化変換比率が報告されている¹⁹²²⁾。Carmago ら(2004)の総説によると、マウスへの全骨髄ないし造血幹細胞の移植では、一部の報告^{1949, 1950)}を除くと、神経細胞、グリア細胞、肝細胞、心筋、骨格筋などでの生体内で起る造血幹細胞の分化変換頻度は多くとも 2~3%程度で、ヒトの骨髄移植でも骨芽細胞、肝細胞、胃腸管粘膜上皮への分化転換率は極めて低い¹⁹²²⁾。単一造血幹細胞の移植では、組織に損傷を起さない場合、全身の組織には分化変換はほとんど起らず、心臓毒注射による重篤な傷害惹起マウスでも移植した骨髄幹細胞の約 80%までは局所に移住するが、骨格筋細胞への分化転換は 0.01%と極めて低率であ

る¹⁹⁴⁶⁾。以上の知見から、骨髄幹細胞から非造血細胞への分化転換は生理的な状態では起らず、病的状態で確率論的に発生する極めて稀な現象である^{1922, 1951, 1952)}。

しかしながら、骨髄幹細胞の可塑性によって惹起される分化転換は、すでに述べた如く、Bリンパ球前駆細胞から骨髄系細胞へとスイッチし、さらにマクロファージに分化する現象は遺伝子ならびに分子レベルで解明されている。分化転換には骨髄由来幹細胞のみならず骨髄系前駆細胞、分化した骨髄系細胞、単球、マクロファージが関与し、造血幹細胞の可塑性による生体内での造血細胞の分化転換は Cre/loxP システム法によるコンデシオナル・ノックアウトマウスに単離幹細胞移植法を用いた解析からむしろマクロファージを含む骨髄系細胞の融合現象に求められている¹⁹⁵³⁾。

2) マクロファージの融合 (macrophage fusion)

細胞融合は動物の発生上受精現象で起こる精子と卵子の融合(配偶子融合 gamete fusion)に見られ、筋芽細胞、トロトブラスト(栄養膜細胞)、マクロファージなどでも起る^{1954~1957)}。破骨細胞は「マクロファージの類縁細胞の分化と成熟」の項(p. 345)で述べた如く、骨吸収を営む多核性細胞であって、破骨細胞の多核化(multinucleation)は単核性の破骨前駆細胞の融合に因り、核分裂によっては惹起されない。種々の処理困難な異物や病原体などにマクロファージが反応し、処理困難な物質が大型の場合、マクロファージがそれを囲繞し、マクロファージは相互に融合し、大型の物質の周囲を取り囲み、無脊椎動物の分野では囲包化と呼ばれている。ヒトを含む高等動物でも同様に、例えば棘が刺さった場合、その物質をマクロファージが集族、囲繞、融合し、多核性巨細胞として物質を包み込んでしまう。この種の多核性巨細胞は「炎症性刺激によって発生、分化するマクロファージ」の「類上皮細胞ならびに多核性巨細胞」の項(p. 251)で詳述した如く、異物型、ラングハンス型、ツートン型多核性巨細胞と呼ばれ、これら病的状態で起るマクロファージの融合による多核化は正常分化過程で見られる破骨細胞の機序とは基本的に同一と見做される。

図 93 は筆者らが行った実験を示したもので、A は ⁸⁹Sr 投与投与極度単球減少症惹起マウスで、末梢血中から単球が消失した状態が 2 週間持続した時点でグルカンを静脈内注射した後 7 日目の肝臓に発生した多核性巨細胞であって、Kupffer 細胞の融合によって形成され、この過程では単球は関与しない。B は内面を寒天でコートしたガラス管をウサギの頸静脈と吻合させ、吻合後 10 日目のガラス管の内面に起る変化である。吻合したガラス管内面の寒天上では、始め好中球や単球が接着し、やがて好中球は減少、消失する一方、単球からマクロファージへと分化し、ガラス管の内面に貼り付いたマクロファージは相互に融合し、巨細胞を形成し、血流面を覆い、内皮細胞類似の被覆細胞に変態する。マクロファージの融合には幾つかの蛋白が同定され、マクロファージ融合受容体(macrophage fusion receptor: MFR、別名 SIRPα)とそのガンド CD47 とは細胞接着、認識、結合に関与し、これらは類似の分子構造を共有する免疫グロブリン・スーパーファミリーに包括される細胞

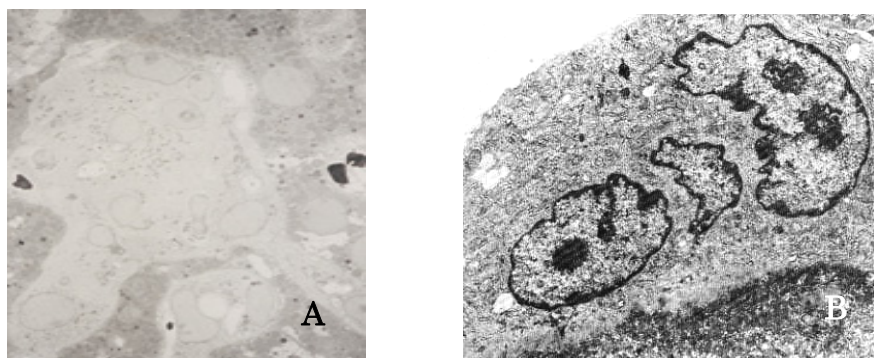


図 93 マクロファージの融合による多核性巨細胞化

A ^{98}Sr 投与極度単球減少症惹起マウスにおける B グルカン投与肝肉芽腫形成実験：末梢血中の単球欠如状態における Kupffer 細胞のみの癒合によって形成された多核性巨細胞。

B ウサギ頸静脈ガラス管吻合実験：ガラス管内面の寒天上には単球由来のマクロファージが相互に癒合し、巨細胞を形成し、内皮様細胞に分化する。

表面蛋白 (IgSF proteins) である^{1958~1960})。MFR はマクロファージの融合前にも発現しているが、CD47 の発現レベルも一定不変のまま保たれている¹⁹⁵⁷)。CD47 の細胞外ペプチド型はマクロファージに発現する MFR と結合し、マクロファージの多核化を阻止し、試験管内でも MFR の細胞外ドメインがマクロファージの融合を阻止する¹⁹⁵⁶)。CD44 は細胞間あるいは細胞基質間の接着に重要な役割を演じる必須の膜性糖蛋白であって、この蛋白には種々のアイソフォームが存在し、肺胞マクロファージや破骨細胞などに発現し、マクロファージの融合開始時 CD44 は高度かつ一時的に発現する。CD44 はヒアルロン酸、コラーゲン、フィブロネクチン、オステオポンチンなどの細胞外基質成分を認識、結合し、これらの基質との CD44 との相互作用はマクロファージの多核化を阻止し、CD44 のリコンビナント液性細胞外ドメインは試験管内でのマクロファージと結合し、CD44 抗体も多核化を阻止する^{1961, 1963})。しかし、CD44 欠損マウスでは CD44 の癒合過程への関与を示す直接的証拠は得られていない¹⁹⁶⁴)。7 回膜貫通蛋白 DC-STAMP が破骨前駆細胞やマクロファージの癒合に関与し、多核化を起し、DC-STAMP 欠損マウスは破骨前駆細胞やマクロファージの多核化を起さないことが明らかにされている¹⁹⁶⁴)。このように、マクロファージの癒合と多核細胞化の過程が分子レベルで解明されつつある。

血管に傷害が起り、内皮細胞が剥離、脱落、欠損すると、周囲の内皮細胞が伸展し、欠損内皮細胞を修復されるが、同時に血中を循環している白血球が血管損傷面に接着し、単球がマクロファージに分化し、図 93B で示したように、マクロファージは相互に融合して

損傷面を覆う。この過程で、マクロファージは周囲から伸展した内皮細胞とも融合し、マクロファージ・内皮細胞融合を起す。この過程では、マクロファージの分化転換の項で述べた如く、血管損傷、放射線障害、動脈結紮などの種々の病的状態では、マクロファージの他に、骨髓系前駆細胞、骨髓単球系細胞、単球などが関与する^{1917, 1924~1932})。骨髓系前駆細胞から由来する内皮細胞はCD31、von Willebrand 因子、Tie2 を表出するが、CD45(LCA)、F4/80 などの造血細胞マーカーやデスミン、平滑筋アクチン (smooth muscle actin) などの周皮細胞マーカーは発現しない¹⁹⁶⁴)。Cre/loxP システムを組み合わせた Tie2 コンディショナル・ノックアウトマウスでの細胞系列追跡法による解析では、この骨髓由来の内皮細胞は細胞融合によって発生したものではなく、さらに、パラバイオーシスの作製による造血細胞と内皮細胞のキメラ実験から急性放射線傷害などの病的状態でも末梢血中を循環している前駆細胞から内皮細胞に分化することが実証され¹⁹⁶¹)、慢性閉塞性肺疾患のヒト肺動脈で、骨髓由来の CD133 陽性内皮前駆細胞は、内皮細胞ならびに平滑筋細胞に分化することが解明されている¹⁹⁶⁶)。これらの研究成果から、血管傷害のない場合、骨髓由来の内皮前駆細胞は内皮細胞へと分化し、この過程は細胞融合によるものではなく、血管傷害時惹起される骨髓前駆細胞の可塑性と細胞融合による機序とは相違する。すなわち、成熟マウスでの腫瘍血管新生の解析では、血管芽細胞の存在は明確に実証されるが、細胞融合を除外すると、骨髓幹細胞の内皮細胞への直接分化は極めて稀な現象である¹⁹⁶⁷)。同様に、GFP 遺伝子導入マウスから採取した全骨髓細胞あるいは単離骨髓幹細胞の移植実験で、GFP 陽性骨髓幹細胞を追跡すると、骨髓幹細胞の分化転換は稀であって、全骨髓細胞移植では、骨髓細胞が機械的血管損傷後の創傷治癒に関与する血管壁細胞への分化する¹⁹⁶⁸)。

こう言った種々の傷害や腫瘍発生などの病的状態では、造血幹細胞は皮膚、肺臓、腎臓、肝臓、消化管などの種々の上皮細胞、骨格筋、心筋、平滑筋、血管内皮、中枢神経系の神経細胞などに分化転換し、造血幹細胞は可塑性を有し、CD45 (LCA) などの造血細胞本来の性格を完全に喪失することなく、完全ではないが、部分的にある非造血性表現型を獲得し、二系統の異なった表現型を発現する¹⁹⁶⁹)。Cre/loxP 結合法によるコンディショナル・ノックアウトマウスを用いての骨髓移植実験では、骨髓由来細胞が神経細胞、心筋細胞、肝細胞に融合し、ドナー由来の造血細胞と宿主の組織細胞とが多核性巨細胞を形成し、細胞癒合によって分化転換を惹起する¹⁹⁷⁰)。

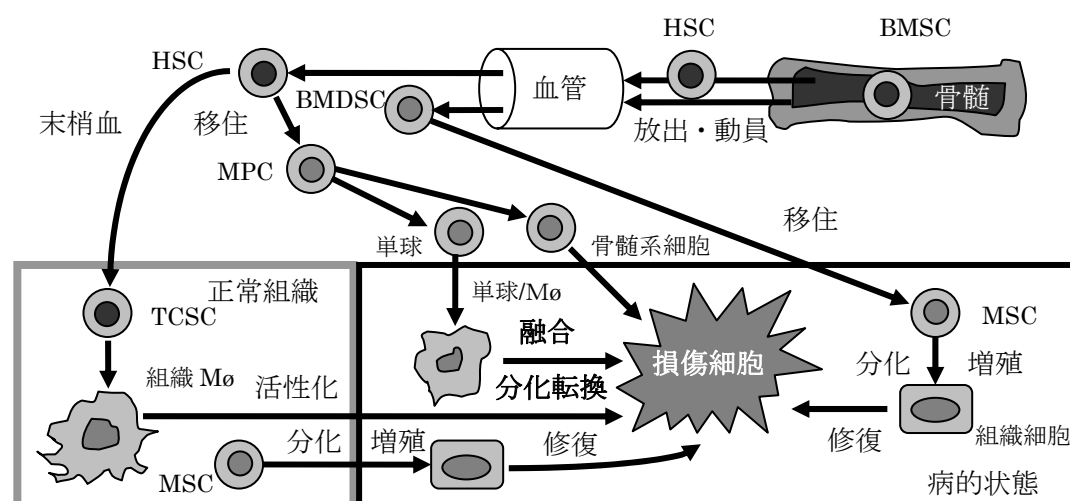
骨髓由来の造血幹細胞は種々の組織に移行するが、すでに、「SDF-1/CXCR4 欠損マウス」の項(p. 309)で述べた如く、骨髓内には種々の組織コミット幹細胞に分化する CD34/CD133/CXCR4 発現造血幹細胞の“隠れ場所”が存在し、SDF-1 濃度勾配に応じて骨髓から末梢血へと動員され、CXCR4 を介して臓器組織に移住し、組織再生に参画する¹⁴⁹⁴)。骨髓幹細胞は CXCR4 に加えて、CD133 を表出し、神経、骨格筋、肝臓の組織コミット幹細胞にも CXCR4 と CD133 とが発現し、これらの組織コミット幹細胞は骨髓幹細胞から分化転換する¹⁹⁶⁴)。ヒト末梢血から分離、増幅した CD133 陽性造血幹細胞に Flt-3/Flk2 リガンドと IL-6 を添加し、3~5 週間の培養で作製した CD45 陽性付着細胞が神経前駆細胞、肝

細胞、骨格筋細胞への分化する¹⁴⁹⁵⁾。ヒト角膜では、正常時のストローマ細胞には少数ながら CD133(5.3%)、CD34(3.6%)陽性の造血幹細胞が検出され、同時に CD45、CD14 のマクロファージ・マーカーを発現し、病的角膜では CD133、CD34 陽性細胞が 26.8%までの増加を示し、同時に CD14 を発現するが、CD45 は発現しない。しかし、クローン形成検索では、正常角膜ストローマ細胞はマクロファージ・コロニーを形成し、ルミカン発現角膜細胞への分化が実証された¹⁴⁹⁶⁾。以上の諸事実から、多分化能性骨髄幹細胞に起源する CXCR4・CD133 陽性造血幹細胞が骨髄から末梢血内に動員され、全身各所の臓器組織に移住し、組織コミット幹細胞へと分化し、種々の細胞へと分化すると、同時に組織内で組織コミット幹細胞からマクロファージへの分化、成熟する過程を辿ると理解される。

中枢神経系では、すでに「ミクログリアの分化と成熟」の項(p. 348)で述べた如く、ミクログリアや血管周囲細胞の造血幹細胞由来が GFP 導入造血幹細胞のマウスへの単一細胞移植実験で立証されている¹⁹⁷¹⁾。マウスの骨髄移植実験では、骨髄幹細胞が脳に移住し、神経細胞に特異的な抗原を発現し¹⁹⁷²⁾、成熟骨髄ならびに臍帯血幹細胞の神経細胞への分化転換が検討され、間葉系幹細胞・骨髄ストローマ細胞、成熟骨髄幹細胞、多能性成熟造血前駆細胞、臍帯血幹細胞からの神経細胞への分化転換が論じられている¹⁹⁷³⁾。Keene ら (2003) はβガラクトシダーゼ(β-Gal)遺伝子導入マウスから単離した多能性成熟骨髄前駆細胞を胚胞嚢内注入によって作製したキメラ胚胞嚢を雌マウスに移植し、キメラマウスを作製し、β-Gal と組織特異的マーカーを用いて検討した。その結果、ドナー由来のβ-Gal 活性が成熟マウス脳内に証明され、組織特異的抗原との検索では脳内の部位によって異なるが、神経細胞あるいはグリア細胞はβ-Gal 陽性で、造血幹細胞は神経細胞やグリア細胞への分化能を保有することが提示されている¹⁹⁷⁴⁾。GFP 遺伝子導入マウスの骨髄細胞を移植し、3 ヶ月後に脊髄と後根神経節を検索した結果、GFP 陽性細胞は神経細胞やミクログリアの形質表現を示し、骨髄由来の細胞が神経細胞やミクログリアの神経発育に関与し、神経細胞よりもミクログリアにおけるドナー由来の骨髄細胞からの転換が速いことが明らかにされている¹⁹⁷⁵⁾。

チロシン血症 I 型のマウスモデル、フマリルアセト酢酸水酸化酵素欠損(Fah^{-/-})マウスに Fah^{+/+}マウスの骨髄を移植すると、Fah^{-/-}マウスの肝障害は回復し、肝臓の組織は正常化し、Fah 遺伝子を発現する。性染色体の差異を用いてのドナーの雌マウスの骨髄を宿主の雄マウスへの移植¹⁹⁷⁶⁾ならびに GFP ウイルス・ベクターで標識した野生型骨髄細胞の移植実験¹⁹⁷⁷⁾で、ドナーの造血細胞ゲノムが骨髄細胞と肝細胞との融合によって肝細胞に養子移入され^{1977, 1978)}、Fah 遺伝子は活性化され、CD45 などの汎造血マーカーはやがて消失する¹⁹⁷⁷⁾。しかし、GFP 遺伝子導入マウスら採取した骨髄細胞の免疫不全新生仔ならびに成熟マウスや正常新生仔マウスへの移植実験で検討すると、成熟免疫不全マウスの肝臓内には GFP 発現細胞が出現し、CD45 を発現する。GFP 発現 CD45 陽性骨髄細胞には、肝細胞や胆管上皮に特異的な遺伝子は検出されず、肝臓内に移植された GFP 発現骨髄細胞は肝細胞や胆管上皮には分化転換しない¹⁹⁷⁸⁾。肝傷害時では、GFP 発現骨髄細胞は肝臓内には増加するが、

図 94 マクロファージの分化転換と細胞融合



BMSC: bone marrow stem cells、HSC: hematopoietic stem cells、BMDSC: bone marrow-derived stem cells、

MPC: myeloid progenitor cells、MSC: mesenchymal stem cells、Mφ:マクロファージ

肝細胞や胆管上皮への分化転換は惹起されず、損傷肝病変は GFP 発現細胞によって置換されず、再生は起らなかった (1978)。アルブミンやα胎児蛋白を肝細胞のマーカーにして骨髄前駆細胞の培養実験で、骨髄前駆細胞からの肝細胞への分化転換は見られなかった (1979)。Thorgeisson & Gerisham (2006)の総説では、2005 年まで報告された 77 編の論文を逐一再検討の結果、マクロファージ系細胞と肝前駆細胞との融合が研究者によっては指摘されているが、造血幹細胞から肝前駆細胞への分化転換に関しては否定的な見解が提示されている (1942)。

成熟マウスの正常ないし病的な心臓の移植実験で、心筋細胞に特異的な種々の遺伝子マーカーを用いての注入骨髄幹細胞の検討では、造血幹細胞の心筋細胞への分化転換は起らないことが報告されているが (1980, 1981)、心筋梗塞巣では瘢痕組織の形成に際して骨髄由来の線維芽細胞や筋線維芽細胞が増加し、血管新生が惹起される (1981)。Camargo ら(2004)は骨格筋への造血幹細胞ないし前駆細胞からの分化転換に関して、骨髄幹細胞は骨髄から末梢血へと動員され、骨髄細胞へと分化し、筋損傷病変へと補給され、炎症細胞として反応し、骨格筋細胞と融合し、転換する過程を提示した (1922, 1951)。この過程は通常筋細胞の再生に起こる筋芽細胞を介しての筋細胞形成過程とは異なる (1922, 1951)。さらに Camargo ら(2003)は骨髄から放出、動員され骨髄幹細胞が末梢血中を循環中に分化した骨髄細胞はマクロファージと顆粒球であり、これらの浸潤細胞は組織の宿主細胞と直接的融合することを主張した (1951)。その他、種々のキメラマウスを用いた移植実験 (1978~1980)やマウス骨髄幹細胞のニワトリ胎仔心臓への移植実験 (1981)でも骨髄幹細胞の骨格筋細胞への分化転換が報告され (1982~1986)、ラットのマクロファージを用いての培養実験で、TGF-βシグナリングがマクロファージの平滑筋細胞あるいは筋線維芽細胞への分化転換を亢進し (1985)、ラットの肉芽組織形成

実験では、ED1/ED2 陽性マクロファージの筋線維芽細胞への分化転化を惹起する¹⁹⁸⁶⁾。

以上述べたように、骨髄からは造血幹細胞が産生され、CD34、CD133 を発現し、骨髄幹細胞として末梢血中に放出され、組織で産生される SDF-1 によって遊走し、CXCR4 を介して組織内に移住し、CD34、CD133、CXCR4 陽性の組織コミット幹細胞になる。さらに、無刺激定常状態でも僅かではあるが、末梢血から組織コミット幹細胞は全身組織内に移住し、組織で産生される IL-3、GM-CSF、M-CSF などによって組織マクロファージへと分化、成熟し、局所で長期間生存する(図 94 参照)。しかし、炎症、感染症、創傷治癒、病的再生、腫瘍など組織が病的状態である場合は、骨髄幹細胞の産生や末梢血中への放出、病的組織への動員が亢進する。骨髄幹細胞の他に、骨髄ストローマ細胞に含まれる間葉性幹細胞も造血幹細胞に含まれ、骨髄から放出、動員され、病的組織での組織再生に関与し、種々の間葉組織での組織細胞へと分化する。同時に、骨髄幹細胞は組織コミット幹細胞になり、マクロファージのみならず線維芽細胞、内皮細胞、筋線維芽細胞、平滑筋細胞、骨格筋細胞、心筋細胞、肝細胞、神経細胞などへと分化転換する。しかし、この分化転換に関しては細胞融合による機序も解明され、この機序には骨髄幹細胞が直接癒合する過程が知られている。骨髄から放出された骨髄幹細胞は末梢血中を循環する間に骨髄系細胞に分化し、骨髄前駆細胞、単球、単球由来の炎症性マクロファージなどが損傷組織細胞と癒合し、修復に関与する。その他、全身各所の組織には組織固有の幹細胞、すなわち間葉幹細胞が増殖、分化し、欠損組織を置換、再生、修復に関与し、組織修復過程には種々の機構が作動する(図 94 参照)。

おわりに

マクロファージは 1882 年 Metchnikoff によって食細胞学説として提唱され、その後 1924 年 Aschoff によって提唱された網内系学説に包括され、1969～1970 年頃から van Furth の MPS 学説によって統括され、MPS 学説では炎症性刺激状態で出現する滲出マクロファージのみならず無刺激定常状態で全身各所に広く分布する組織マクロファージのすべてが単球に由来すると主張されている。本書ではこれらの諸学説の理念と、それぞれの学説に対して繰り広げられた批判論についても詳述した。これらの諸学説を踏まえて、マクロファージの起源、発生と分化に関して述べた。まず「マクロファージの系統発生」の項(p. 108)で詳説した如く、マクロファージの原型は単細胞であるアメーバ原虫あるいは鞭毛虫などアメーバ状単細胞、すなわち原生動物に求められる。原生動物はヒトを始め哺乳類のマクロファージと同様に旺盛な貪食能を発揮し、貪食は分子機構上マクロファージと類似し、種々の受容体を介して遂行され、種々の生体機能を営んでいる。動物の進化上原生動物が集合し、単細胞から多細胞性動物へと進化し、Metchnikoff はその中間段階の動物を想定し、実質細胞期動物、別名貪食細胞期動物と命名し、ゲル状物質内に多数の鞭毛虫が群生して形成された多細胞性動物に相当するものとしてプロトスポンギアを挙げた。し